تعیین دز مناسب اشعه گاما در خرفه به‌منظور القاء جهش مصنوعی

پگاه فرهادی[۱،*]، محمدحسین فتوکیان[۲]، مریم پژمان مهر[۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

[۲] دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

[۳] استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران

[*] نویسنده مسئول: pegah.farhadi93@yahoo.com

چکیده

گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) دارای مواد مؤثر فراوانی است. با توجه به اهمیت تنوع ژنتیکی در اصلاح نباتات، از جهش مصنوعی برای ایجاد تنوع می‌توان استفاده کرد. این پژوهش به‌منظور بررسی آثار دزهای مختلف اشعه گاما (۰ (شاهد)، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۳۰، ۱۸۰، ۲۵۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۳۰۰ گری) بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر خرفه و تعیین دز مناسب پرتو گاما برای ایجاد جهش از طریق طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. براساس تجزیه پروبیت دز مطلوب ۴۳۷ گری تعیین شد. نتایج تجزیه واریانس صفات نشان داد که بین دزهای اشعه گاما برای درصد جوانه‌زنی تفاوت معنی‌دار وجود دارد ولی برای صفات طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه این تفاوت معنی‌دار نبود. رابطه معنی‌داری بین مقدار دز و درصد جوانه‌زنی مشاهده نشد. کمترین مقدار جوانه‌زنی در دز ۱۰۰ گری مشاهده شد که البته با بقیه دزها به‌جز دزهای ۶۰۰ گری و شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت. با توجه به اینکه تابه‌حال در ارتباط با تأثیر اشعه گاما بر خرفه گزارشی مشاهده نشده بود و همچنین نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق نشان داد که دز مطلوب اشعه گاما برای خرفه مورد استفاده حدود ۴۵۰ گری است.

***کلمات کلیدی:* تنوع ژنتیکی، تجزیه پروبیت، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه.**

مقدمه

گیاه دارویی خرفه (*Portulaca oleracea* L.) از خانواده Portulacaceae می‌باشد. خرفه گیاهی یک‌ساله و تابستانه است که دارای ساقه‌های آبدار قرمز تا بنفش‌رنگ (ارغوانی) خوابیده می‌باشد که از یک ریشه اصلی و گوشتی منشعب می‌شوند. بذر خرفه دارای فواید گوناگونی از جمله تصفیه‌کننده خون (Antczak *et al.*, 2005)، رفع عطش، رفع سرفه خشک، تنگی نفس (Rashed*et al.*, 2003)، خرد کردن سنگ مثانه (Changizi-Ashtiyani*et al.*, 2013)، کاهش ریفلاکس معده-مری (Karimi, 2004)، می‌باشد. خرفه به‌عنوان غذای برتر آینده انتخاب می‌شود، چرا که دارای بسیاری از ترکیبات مغذی و خصوصیات آنتی اکسیدانی است (Dkhill, 2011). خرفه یکی از غنی‌ترین منابع گیاهی اسیدهای چرب امگا ۳ به‌حساب می‌آید، به‌طوری‌که میزان اسیدهای چرب امگا ۳ موجود در آن، ۵ برابر اسفناج است (Uddin, 2014).

تنوع ژنتیکی، اساس روش‌های اصلاح نباتات است. افزایش تنوع ژنتیکی، به‌واسطه تلاقی‌های گوناگون و جهش‌های خودبه‌خودی و القایی میسر است (Hamzehkhanlu, 2012). ازآنجایی‌که جهش‌های خود به خودی با فراوانی خیلی کم رخ می دهند، فن‌آوری‌های القا جهش، ابزار مناسبی برای ایجاد سریع و افزایش تنوع در گونه‌های گیاهی هستند (Maluszynski, 1995). برای القای جهش مصنوعی، از عوامل جهش‌زای فیزیکی یا شیمیایی استفاده می‌شود. از میان عوامل جهش‌زای فیزیکی، می‌توان از اشعه‌ی یونیزان گاما یاد کرد (Fotokian, 1998). یافته‌های بسیاری در رابطه با متفاوت بودن حساسیت ژنوتیپ‌ها نسبت به موتاژن‌ها، به‌ویژه پرتوهای یون‌ساز منتشر شده است. اصلاح‌گران با کاربرد جهش در جو، به بوته‌هایی با سرعت جوانه‌زنی بالایی دست یافتند (Molina-Cano, 1989). مطالعه آثار اشعه گاما بر ویژگی‌های کمی و کیفی برنج مشخص کرد که دز اشعه تا حدی باعث بهبود صفات رویشی می‌شود، اما با افزایش میزان دز، روند کاهشی در صفات مورد مطالعه مشاهده می‌شود (Saha, 2005). همچنین مستقل بودن جوانه‌زنی بذرهای نخود از تابش‌دهی‌های مختلف اشعه گاما توسط

پژوهشگران گزارش شده است (Molina-Cano, 1989). در پژوهشی دیگر، به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی، مطالعه‌ای روی گونه های کلزای Sarigol و RGS003 انجام شده است (Fotokian, 2010). آن‌ها دریافتند که در شرایط ظرف پتری بین دزهای اشعه گاما، گرچه از نظر درصد جوانه‌زنی اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت، ولی از نظر سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار مشاهده می‌شود. هم‌چنین در شرایط کشت گلدانی گونه‌های کلزای مورد مطالعه، از نظر درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱درصد بودند (Khan, 2002). هدف از اجرای این تحقیق تعیین دز مناسب اشعه گاما در مطالعات موتاسیونی در خرفه و همچنین بررسی اثرات اشعه گاما بر برخی ویژگی‌های بذر شامل درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در گیاه دارویی خرفه بوده است.

مواد و روش‌ها

پرتودهی بذرها با اشعه گاما

بذرهای خرفه که از شرکت پاکان بذر تهیه شده بود با اشعه گاما در دزهای (۰ (شاهد)، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۵۰، ۸۰، ۱۰۰، ۱۳۰، ۱۸۰، ۲۵۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۳۰۰گری) تابش‌دهی شدند. پرتودهی با منبع کبالت ۶۰ در محفظه گاماسل ۲۲۰ با تابش ۲/۳۲ گری بر ثانیه در مرکز تابش گامای سازمان انرژی اتمی ایران انجام گرفت. رطوبت بذر در هنگام پرتودهی حدود ۱۵درصد بوده است.

اندازه‌گیری صفات مرتبط با جوانه‌زنی

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۴ تکرار در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد انجام شد. برای هر ذر اشعه گاما، تعداد ۴ ظرف پتری (هر ظرف ۵۰ بذر سالم) در نظر گرفته شد. بذور در ژرمیناتور با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و چرخه نوری ۱۲-۱۲ قرار داده شدند. بذور در داخل ظرف پتری بر روی کاغذ صافی قرار گرفتند. تعداد بذرهای سبز شده روزانه شمارش شدند. بعد از ۶ روز، از هر ظرف پتری تعداد ۵ عدد گیاهچه به تصادف انتخاب و طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه اندازه‌گیری شدند. تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که بین دزهای مختلف اشعه گاما از نظر درصد جوانه‌زنی اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. تفاوت بین دزهای اشعه گاما برای طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه معنی‌دار نبوده است. رابطه معنی‌داری بین مقدار دز و درصد جوانه‌زنی مشاهده نشد، چون انتظار عمومی بر این است که با افزایش دز، میزان ناهنجاری کروموزومی و در نتیجه میزان مرگ و میر و یا کاهش جوانه‌زنی افزایش یابد. کمترین مقدار جوانه‌زنی در دز ۱۰۰ گری مشاهده شد که البته درصد جوانه‌زنی در این دز با بقیه دزها به‌جز دزهای ۶۰۰ گری و شاهد تفاوت معنی‌دار نداشته است (جدول ۲). حداکثر جوانه‌زنی در تیمار شاهد(بدون تیمار با اشعه گاما) مشاهده شد ولی این مقدار با جوانه‌زنی در دزهای ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۳۰، ۱۸۰، ۲۵۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰، ۱۳۰۰گری اشعه گاما تفاوت معنی‌دار نداشت. حداقل درصد جوانه‌زنی (۳۸ درصد) در تیمار ۱۰۰ گری اشعه گاما به دست آمد که با درصد جوانه‌زنی به دست آمده در دزهای ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۸۰، ۱۳۰، ۱۸۰ گری تفاوت معنی‌دار نداشت.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در تیمار با اشعه گاما

منابع تغییر	صفات مورد مطالعه	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)	سطح معنی‌داری (sig)
	درصد جوانه‌زنی	۱۵	./۰۱	./۰۲۵
دزهای اشعه گاما	طول ساقه‌چه	۱۵	۲۵/۴۳	./۷۳۴
	طول ریشه‌چه	۱۵	۶۷/۶۱	./۳۳
	درصد جوانه‌زنی	۴۸	./۰۰۵	
خطای آزمایشی	طول ساقه‌چه	۴۸	۳۴/۴۴	
	طول ریشه‌چه	۴۸	۵۸/۰۴	

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی با آزمون دانکن

دزهای اشعه گاما (گری)	میانگین درصد جوانه‌زنی
شاهد (۰)	۰/۵۶a
۵	۰/۴۶۵abc
۱۰	۰/۴۷۵abc
۲۰	۰/۴۱۵bc
۳۰	۰/۴۲۵bc
۵۰	۰/۵۱abc
۸۰	۰/۴۴۵abc
۱۰۰	۰/۳۸c
۱۳۰	۰/۴۷abc
۱۸۰	۰/۴۷abc
۲۵۰	۰/۵۲abc
۴۰۰	۰/۵۱۵abc
۶۰۰	۰/۵۵a
۸۰۰	۰/۵۰۵abc
۱۰۰۰	۰/۵۱abc
۱۳۰۰	۰/۵۳abc

همبستگی پیرسون بین همه صفات به‌جز همبستگی بین درصد جوانه‌زنی با طول ساقه‌چه معنی بوده است. همبستگی بین درصد جوانه‌زنی با طول ریشه‌چه در سطح احتمال ۵درصد (./۳۱) و همبستگی بین طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در سطح احتمال ۱درصد (./۸۹) معنی‌دار بوده است.

از آن‌جا که تابش‌دهی بذرها با اشعه گاما در سازمان انرژی اتمی ایران با هزینه‌ی ناچیز انجام می‌گیرد، و با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش، و هم‌چنین گران بودن مواد شیمیایی جهش‌زا، پیشنهاد می‌شود با کنترل شرایط تابش‌دهی مثل رطوبت بذر، کشت بذرها بلافاصله پس از تابش‌دهی بذرها به‌منظور افزایش بازدهی و سودمندی جهش‌زایی از اشعه گاما به‌عنوان موتاژنی مناسب در پژوهش‌های خرفه و سایر گیاهان استفاده شود.درصد جوانه‌زنی باوجوداین که با دز اشعه گاما

همبستگی دارد، اما صفت مناسبی جهت تعیین دز مطلوب نیست، زیرا که درصد جوانه‌زنی در سطوح مختلف دز تابش‌دهی اشعه گاما تقریباً یکسان بود و اختلاف معنی‌داری نداشت. به‌عبارت‌دیگر، اکثر بذرهای تابش‌دهی شده جوانه می‌زنند، اما در طول فرایند رشد، به دلیل وقوع جهش‌های کشنده، از بین می‌روند. از جمله این‌گونه جهش‌ها می‌توان به بی‌رنگی اشاره نمود که به دلیل فقدان سبزینه، گیاه از بین می‌رود. بنابراین بهتر است از صفاتی مانند طول ساقه و ریشه استفاده شود. در این میان به دلیل حساسیت بیشتر ریشه نسبت به ساقه در برابر پرتوها، اندازه‌گیری طول ساقه به‌منظور تعیین دز مطلوب، مناسب تر می‌باشد.

منابع

Antczak, A., Kharitonov, S.A., Montuschi, P., Gorski P. and Barnes, P.J. 2005. Inflammatory response to sputum induction measured by exhaled markers. Respiration; 72(6): 594-9.

Changizi-Ashtiyani, S., Zarei, A., Taheri, S., Rasekh, F. and Ramazani, M. 2013. The effects of (*Portulaca oleracea* L) alcoholic extract on induced hyper cholesteroleomia in rats. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences; 15(6): 34-39.

Dkhil, M. A., Moniem, A. E. A., Al-Quraishy, S. and Saleh, R. A. 2011. Antioxidant effect of purslane (*Portulaca oleracea*) and its mechanism of action. Journal of Medicinal Plants Research; 5(9): 1589-1593.

Fotokian, M.H., Khosroshahi, M, Moghaddam, M. and Shakiba, M.R. 1998. The study on the effect of gamma rays on several iranians rice (*Oryza sativa).* Journal of daneshvar; 6(22): 51-58. (in persian)

Fotokian, M.H., Amiri Ogham, H., Davodi. and Ramehe, V. 2010. Inducing genetic diversity in SARIGOL and RGS003 rapeseed using gamma rays, Research project, Agricultural Research center, Shahed university. (in persian)

Hamzehkhanlu, M.Y., Darbandi, A. L., Beiranvand, N.P. and Hallajian, M.T. 2012. Morphological variation in the 7th generation soybean mutant lines irradiated by gamma ray under greenhouse conditions. Journal of science and technology of greenhouse culture; 3(9): 97-106

Karimi, G., Hosseinzadeh, H. and Ettehad, N. 2004. Evaluation of the gastric antiulcerogenic effects of (*Portulaca oleracea* L.) extracts in mice. Phytotherapy Research; 18(6): 484-487.

Khan, M. Q., Anwar, S. and Khan, M. I. 2002. Genetic variability for seedling Traits in 2221(5): 588-590.

Maluszynski, M., Ahloowalia, B. S. and Sigurbjörnsson, B. 1995. Application of in vivo and in vitro mutation techniques for crop improvement. In The methodology of plant geneticmanipulation: criteria for decision making. Springer Netherlands; 85: 303-307.

Molina-Cano, J. L., de Togores, F. R., Royo, C. and Perez, A. 1989. Fast-germinating low β-glucan mutants induced in barley with improved malting quality and yield. Theoretical and Applied Genetics; 78(5): 748-754.

Rashed, A. N., Afifi, F. U. and Disi, A. M. 2003. Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in Mus musculus JVI-1. Journal of Ethnopharmacology; 88(2):131-136.

Saha, A., Santra, S. C. and Chanda,S. 2005. Modulation of some quantitative characteristics in rice (*Oryza sativa*) by ionizing radiation. Radiat. Physic. Chem; *74*: 391-394.

Uddin, M. K., Juraimi, A. S., Hossain, M. S., Nahar, M. A. U., Ali, M. E. and Rahman, M. M. 2014. Purslane weed (*Portulaca oleracea*). a prospective plant source of nutrition, omega-3 fatty acid, and antioxidant attributes. The Scientific World Journal; 16(4): 1-6.

Determination of Suitable Dose of Gamma Rays on Purslane (*Portulaca Oleracea* L.) for Induced Mutation

Pegah Farhadi[1*], Mohammad Hoseein Fotokian[2], Maryam Pezhmanmehr[3]

[1] M.Sc Student, College of Agriculture, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[2] Associate professor, College of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

[3] Assistant professor, College of Agriculture, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[*]*Corresponding Author: pegah.farhadi93@yahoo.com*

Abstract

Purslane (*Portulaca oleracea* L.), is a medicinal plant, contains a significant amount of effective ingredients. With regard to the importance of genetic diversity in plant breeding, induced mutation has been used for variation. This study was conducted to evaluate the effect of different gamma rays doses (0 (control), 10, 20, 30, 50, 80, 100, 130, 180, 250, 400, 600, 800, 1000 and 1300 Gray) on traits related to grain germination of purslane and also to determine the suitable dose of gamma rays for induced mutation through completely randomized design with four replications. On the basis of probit analysis, suitable dose of gamma rays for purslane was determined by 437 Gray. Refer to variance analysis results, the differences among gamma rays doses for germination rate were significant, but it was not statistically significant for shoot length and root length. There wasn't significant relation among gamma rays doses and germination rate. The least germination rate was obtained in dose 100 Gray, but the amount of this dose was not significant with others with exception of 0 and 600 Gray. Up to now no report was found on the effects of gamma rays on purslane and also the result of this study showed that suitable dose for purslane its about 450 Gray.

***Keywords*: Genetic diversity, Probit analysis, Root length, Shoot length.**